

機関番号：17102

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591576

研究課題名（和文） 食道扁平上皮癌の発生・進展に関与するプロテインフォスファターゼの変異・機能解析

研究課題名（英文） Analysis of protein phosphatase gens in esophageal squamous cell cancer

研究代表者

岩谷 岳 (IWAYA TAKESHI)

九州大学・大学病院・医員

研究者番号：70405801

研究成果の概要（和文）：

食道扁平上皮癌の発生・進展に関与するプロテインフォスファターゼ遺伝子を同定した。これらの遺伝子の異常はこれまでに食道癌で報告は見られず、新たな診断マーカー、治療標的となる可能性が示唆された。

研究成果の概要（英文）：

We identified abnormal expression of several protein phosphatase genes in esophageal squamous cell carcinoma by whole transcriptome analysis. These genes may be used as diagnostic markers and therapeutic target for esophageal squamous cell carcinomas.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：消化器外科

科研費の分科・細目：7302

キーワード：癌、外科、遺伝子、蛋白質

## 1. 研究開始当初の背景

脱リン酸酵素、Protein Phosphatase (PP:プロテインフォスファターゼ)はProtein Kinase (PK)と生物学的な平衡状態を保っており、細胞機能は双方の連携によって制御されている。これまでのキナーゼと癌に関わる多数の知見から多くの分子標的治療薬が開発されてきた。PK 遺伝子は種々の癌で多くの変異が報告されている。一方、PP 遺伝子ファミリーに関しても、キナーゼと同様 30%程に変異が存在していることが大腸癌で示されている。

## 2. 研究の目的

食道扁平上皮癌の発生・進展に関与する PP

遺伝子の異常を明らかとする。

## 3. 研究の方法

- 1) PP 遺伝子の変異検索：食道癌切除検体における PP 遺伝子の変異を検索
- 2) PP の機能解析：kinase, phosphatase を含むリン酸化蛋白質、リン酸化酵素などの機能解析には、これらが関与するシグナル伝達経路上の分子群の経時的な発現解析が必要である。種々の癌の cell line を用い Western blot, 高密度逆相蛋白ライセートアレイを用い分子群の発現変化を検討した。
- 3) PP 遺伝子発現解析：食道癌組織検体にお

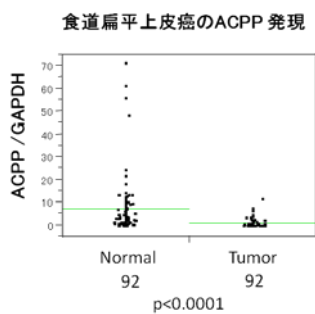
ける PP 遺伝子発現量について網羅的に解析した。

#### 4. 研究成果

1) 大腸癌の約 30%に変異の報告のある 6 個の Protein tyrosine Phosphatase (PTP) 遺伝子 PTPRT, PTPN13, PTPN14, PTPRG, PTPRF, PTPN3 の coding 領域について、食道癌組織では遺伝子変異は認められなかった。

2) 大腸癌・食道癌を含めた種々の培養細胞株で、さまざまな細胞、刺激薬剤、組み合わせ・濃度・時間経過でのシグナル伝達経路上の分子群の発現量を解析することで、それぞれの条件下で異なるシグナル伝達経路が活性化することを示した。

3) 大腸癌で認められたキナーゼ・フォスファターゼ遺伝子の変異の多くは機能的な意義の少ない passenger 変異と考えられている。以上よりわれわれは食道癌に関連するフォスファターゼの同定には変異状態よりも発現状態の検討が重要と考えた。上記 6 遺伝子の食道癌における qRT-PCR による発現解析では、癌・正常組織間での発現差や、予後との関連も認めなかった。次にわれわれは食道癌におけるフォスファターゼの転写産物の発現状態を網羅的に解析した。食道扁平上皮癌 3 症例における癌組織と正常組織におけるキナーゼ遺伝子・フォスファターゼ遺伝子の transcriptome 解析を、次世代シーケンサーを用い施行した。解析された 262 のフォスファターゼ関連遺伝子のうち、正常組織に比し癌組織で有意な発現低下を認めたものは、ACPP, PPP1R3C, DARPP-32, INPP1, LPIN1 の 5 遺伝子であった。ACPP 遺伝子に対し、食道扁平上皮癌症例 90 症例での発現状態を検討すると、ACPP 発現は正常組織に比し癌組織で有意に発現低下しており ( $p < 0.0001$ )、同遺伝子の発現低下が食道癌発生に重要であることが示唆された。



反対に癌組織で正常組織に比し 5 倍以上の有意な発現上昇を認める遺伝子は、PGAM5, DUSP3, DUSP6, DUSP10, NUDT1, CDC25B, PTPRH の 7 遺伝子であった。本研究で同定された PP 遺伝子はこれまでに食道扁平上

皮癌における発現異常の報告はなく、食道癌の新規治療の target の候補になるとも思われた。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 3 件)

1) Analysis of the anti-tumor effect cetuximab using protein kinetics and mouse xenograft models. T Matsuo, S Nishizuka, T Iwaya, et al. BMC research notes, 4:140, 2011.

2) Characterization of clinically-used anticancer agents by quantitative cellular and molecular assay platforms. K Iseida, S Nishizuka, T Iwaya et al. J Iwate Med. Assoc, 2 (5), 363-375, 2010.

3) 食道癌に対する外科治療の限界。木村祐輔, 岩谷岳ら, 癌の臨床 56(3):205-211, 2010

[学会発表] (計 2 件)

1) Evaluation of primary chemotherapy with docetaxel, cisplatin and fluorouracil for advanced esophageal squamous cell carcinoma. American Society of Clinical Oncology, T Iwaya, et al. Gastrointestinal Cancer Symposium. 2010/1/22, Orlando, America.

2) Chemosensitivity prediction of clinically used anticancer agents with quantitative proteomic profiling using reverse-phase lysate microarrays. K Ishida, S Nishizuka, T Iwaya, et al. American Society of Clinical Oncology, Gastrointestinal Cancer Symposium. 2010/1/22, Orlando, America.

3) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、主藤朝也、横堀武彦、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、杉原健一、森正樹。大腸癌のゲノムにおける microRNA 領域の変異とその臨床病理学的意義。第 73 回大腸癌研究会。2010/07/02 奄美大島

4) 西田尚弘、三森功士、永原誠、横堀武彦、古後龍之介、石丸神矢、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。第 73 回大腸癌研究会。2010/07/02 奄美大島

5) 木村祐輔、岩谷岳、野田芳範、肥田圭介、西塚哲、新田浩幸、大塚幸喜、水野大、佐々木章、若林剛。当科における食道癌手術における再建法と治療成績。第 65 回日本消化器外科学会学術集会。2010/07/14 下関

6) 藤井大和、木村祐輔、岩谷岳、野田芳範、肥田圭介、大塚幸喜、新田浩幸、佐々木章、水野大、若林剛。局所進行食道癌(cT4NxM0)に対する Salvage surgery の治療成績。第 65 回日本消化器外科学会学術集会。2010/07/15 下関

7) 岩谷岳、木村祐輔、野田芳範、御供真吾、木村聡元、遠藤史隆、鴻巣正史、肥田圭介、佐々木章、若林剛。高度リンパ節転移を有する Stage III/IV 食道癌に対する Docetaxel/CDDP/5FU 療法の検討。第 65 回日本消化器外科学会学術集会。2010/07/15 下関

8) 松尾鉄平、西塚哲、石田和茂、岩谷岳、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、佐々木章、若林剛。大腸癌における cetuximab 感受性予測のための細胞内シグナル伝達解析。第 65 回日本消化器外科学会学術集会。2010/07/16 下関

9) 西塚哲、石田和茂、松尾鉄平、岩谷岳、木村祐輔、新田浩幸、大塚幸喜、肥田圭介、佐々木章、若林剛。胞ライセートマイクロアレイによる蛋白ネットワーク解析と臨床応用。第 65 回日本消化器外科学会学術集会 2010/07/16 下関

10) 主藤朝也、三森功士、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、田中文明、柴田浩平、藤田博幸、白水雄、森正樹。食道癌における FN1 発現の意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/22 大阪

11) 柴田浩平、三森功士、横堀武彦、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、森正樹、北野正剛。背景肝における Fbx7 発現の低下は肝癌患者の予後不良因子である。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/22 大阪

12) 西田尚弘、三森功士、横堀武彦、古後龍之介、石丸神矢、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、森正樹。食道癌における EMT マーカー FOXC2 の臨床病理学的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

13) 石丸神矢、三森功士、田中文明、柴田浩平、主藤朝也、横堀武彦、西田尚弘、古後龍之介、岩谷岳、森正樹。食道癌および大腸癌

細胞におけるゲノム変化の横断的解析及びその臨床病理学的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

14) 横堀武彦、三森功士、岩谷岳、主藤朝也、岩谷岳、田中文明、柴田浩平、石丸神矢、西田尚弘、古後龍之介、桑野博行、森正樹。食道癌における腫瘍抑制因子 FBXW7 発現の臨床的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

15) 岩谷岳、横堀武彦、三森功士、岩谷岳、主藤朝也、田中文明、柴田浩平、石丸神矢、古後龍之介、桑野博行、森正樹。大腸癌における miR-144 の臨床的意義。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

16) 野口芳範、西塚哲、木村祐輔、岩谷岳、鴻巣正史、肥田圭介、佐々木章、水野大、世良耕一郎、若林剛。CDDP 投与後食道癌症例における組織内白金濃度の検討。第 69 回日本癌学会学術総会。2010/09/23 大阪

〔図書〕(計 1 件)

ライセートアレイ 西塚 哲. バイオチップ 実用化ハンドブック, 167-174, 2010

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
出願年月日 :  
国内外の別 :

○取得状況 (計 0 件)

名称 :  
発明者 :  
権利者 :  
種類 :  
番号 :  
取得年月日 :  
国内外の別 :

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

岩谷 岳 (IWAYA TAKESHI)  
九州大学・大学病院・医員  
研究者番号：70405801

### (2) 研究分担者

西塚 哲 (NISHIDUKA SATOSHI)  
岩手医科大学・医学部・講師  
研究者番号：50453311  
(2009年度より連携研究者)

池田 健一郎 (IKEDA KENICHIRO)  
岩手医科大学・医学部・准教授 (2008年度)  
研究者番号：20254758  
(2009年度より連携研究者)